Lane Medical Library

Ueber die antiseptische Wirkung

der

isomeren salicylsauren Kresole, des salicylsulfonsauren Natrium und des α-oxynaphtolsulfonsauren Natrium, sowie das Verhalten der beiden letzteren Körper im Organismus.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medicinischen Doctorwürde

vorgelegt

der hohen medicinischen Facultät der Universität Bern

von

Hedwig Zimmerli, Arzt,
aus Zofingen.

Auf Antrag des Herrn Prof. *v. Nencki* von der Facultät zum Druck genehmigt.

Bern, 24. Juli 1889. Der Decan: **R. Demme.**

Bern.
Stämpfli'sche Buchdruckerei
1889.

Herrn

Professor Dr. Pflüger in Bern

in tiefster Verehrung

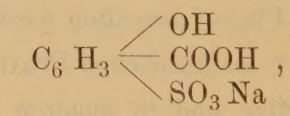
und

aufrichtiger Dankbarkeit

hochachtungsvoll gewidmet.

Nachdem das Verhalten des von Prof. v. Nencki dargestellten Salols (des salicylsauren Phenols) im Organismus untersucht ist und es sich herausgestellt hat, dass dasselbe durch die verschiedensten thierischen Gewebe, als da sind: Pankreas, Leber, Darmmucosa, Magenmucosa, Muskel, in inniger Mischung bei Körpertemperatur in seine beiden Componenten: Salicylsäure und Phenol gespalten wird, welche beide unter den in der medicinischen Praxis verwendeten Antiseptica kräftige und in neuerer Zeit gerade in ihrer Vereinigung in Form eines Säureesters (Salol) ein werthvolles Arzneimittel geworden sind, dürfte es auch von Interesse sein, die drei auf die gleiche Weise erhaltenen Homologen des Salols, die salicylsauren Kresole in erster Linie in Bezug auf ihre antiseptische Wirkung als solche, im Verhältniss zu einander und zu dem Salol, sowie die Ursachen ihrer antiseptischen Eigenschaften kennen zu lernen.

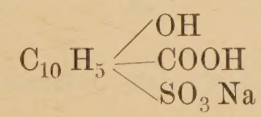
Da es ferner wünschenswerth war, statt der Salicylsäure, deren ausgedehnter Verwendung trotz vorzüglicher Eigenschaften grosse Nachtheile, wie Schwerlöslichkeit in kaltem Wasser, unangenehmer Geschmack, entgegenstehen, und ihr Natronsalz, dem diese Schattenseiten abgehen, nur wirkt, wenn die Säure frei wird, gegenüber derselben schwach antiseptisch und antifermentativ ist, eine Verbindung zu kennen ohne die Nachtheile der Salicylsäure, wohl aber mit Vortheilen gegenüber dem Natr. salicyl., so hat Prof. v. Nencki mich auf das Natronsalz der Salicylsulfonsäure aufmerksam gemacht, von dem zu erwarten ist, dass es dem geäusserten Wunsche entspricht. Dieses Salz hat die Formel:



In ihm ist die Gruppe SO_3 an Na gebunden und die Carboxylgruppe der Salicylsäure ist frei, a priori also denkbar, dass dieses Salz antiseptischere Eigenschaften besitzt, als das salicylsaure Natrium. Dieses habe ich nun analog den mit Salol angestellten Experimenten geprüft, mir ferner die Aufgabe gestellt, die eventuelle toxische Dosis des Salzes festzusetzen und sein Verhalten im Organis-

mus, nebst Form der Ausscheidung durch den Harn, zu untersuchen. Herr Prof. Sahli hat in seiner Klinik das Mittel bereits praktisch verwendet und wird über die Erfolge demnächst anderweitig Bericht erstatten.

Endlich hat mir Prof. v. Nencki auch die α-Naphtolsulfonsäure in Form ihres Natronsalzes



zu gleichen Versuchen übergeben.

I.

Die drei isomeren salicylsauren Kresole von der Formel:

$$C_6H_4 \begin{cases} OH \\ CO.O.C_6H_4.CH_3 \end{cases}$$

sind weisse, krystallinische Körper. Die ortho- und para-Verbindung äusserlich ähnlich dem Salol; die para-Verbindung etwas feiner, doch sich noch ziemlich stark ballend, und die meta-Verbindung ein feines, leichtes Pulver, welches sich angeblasen in feinen Staub vertheilt und nicht ballt. Alle drei haben salolähnlichen Geruch, wenn auch schwächer als dieses; am angenehmsten riecht das salicylsaure m-Kresol. Das salicylsaure o-Kresol erzeugt auf der Zunge und im Rachen ein leicht brennendes Gefühl, während das salicylsaure m- und p-Kresol reizlos sind. Sie lösen sich in Wasser

nicht, geben damit geschüttelt und erwärmt auch keine Reaction mit Eisenchlorid, lösen sich leicht schon im kalten Alkohol und färben sich mit Eisenchlorid intensiv rothviolett. Salicylsaures o-Kresol schmilzt bei 35° C., salicylsaures m-Kresol bei 74° C. und salicylsaures p-Kresol bei 39° C. Sie werden im Körper nicht allein durch Pankreas, sondern auch durch andere Organe, wie Muskeln, in ihre Componenten zerlegt und verhalten sich demnach analog wie das Salol.

Mit allen drei Estern wurden Versuche sowohl mit Fleisch als mit Pankreas angestellt, und zwar so, dass Fleisch und Pankreas fein zerhackt, innig mit der betreffenden Substanz verrieben, einem abgemessenen Quantum Wasser zur Verhinderung des Austrocknens versetzt und in kleinen Kölbchen in den Thermostaten bei 38° gebracht, täglich je nach 24 Stunden auf Geruch und mikroskopisch geprüft wurden. Sofort nach Eintritt von Fäulnissgeruch entfernte ich jede Probe, prüfte noch ihre Reactionen gegen Lakmus und Ferrum sesquichloratum.

Die ersten Versuchsreihen bezweckten zunächst die antiseptische Wirkung der drei Verbindungen überhaupt festzustellen, und dann ihr gegenseitiges Verhältniss. Dafür wurde dann als Erstes eine

Versuchsreihe mit salicylsaurem o-Kresol hergestellt, 8 Proben mit je 20 gr. Fleisch, 10 gr. Wasser und folgenden Mengen des salicylsauren o-Kresols:

1. 0,02 salicyls. o-Kresol, auf 20 gr. Fleisch = 0,1 %
2. 0,05 „ „ „ „ „ „ „ = 0,25 %
3. 0,1 „ „ „ „ „ „ „ = 0,5 %
4. 0,15 „ „ „ „ „ „ „ = 0,75 %
5. 0,2 „ „ „ „ „ „ „ = 1 %
6. 0,4 „ „ „ „ „ „ „ = 2 %
7. 0,6 „ „ „ „ „ „ „ = 3 %
8. 0,8 „ „ „ „ „ „ „ = 4 %

23 Tage hindurch wurden die Proben täglich je nach 24 Stunden nachgesehen und davon mikroskopische Präparate gemacht.

Es stellte sich dabei heraus, dass faulig roch:

Probe 1 mit 0,02 salicylsaurem o-Kresol am 2. Tage
„ 2 „ 0,05 „ „ „ „ 3. „
„ 3 „ 0,1 „ „ „ „ 7. „
„ 4 „ 0,15 „ „ „ „ 8. „
„ 5 „ 0,2 „ „ „ „ 16. „
„ 6 „ 0,4 „ „ „ „ 20. „
„ 7 „ 0,6 „ „ „ } Noch nicht am
„ 8 „ 0,8 „ „ „ } 23. Tage.

Die Entwicklung von Mikroorganismen zeigte sich von dem Eintritte eigentlich typischer fauliger Zersetzung unabhängig. Bacterien waren von Anfang an in allen Proben; am 2. Tag wies die schon faulig riechende Probe 1 eine Unmasse von lebenden Mikroben auf; die am nächsten Tage faulige Probe 2 sehr viele und alle übrigen mehr im späteren Verlauf, wo sowohl o-Kresol als Salicylsäure frei waren. In Probe 3 mit relativ wenig salicylsaurem o-Kresol (0,1) war die Entwicklung und Vermehrung der Bacterien und Mikrokokken bemerkbar nicht ungünstig beeinflusst, dessgleichen in 4. Erst in Probe 5 machte sich vom 5. Tage ab eine Entwicklungshemmung bemerkbar, indem die Bacterien anfingen, in lange Fäden auszuwachsen, und ihre absolute Zahl das Maximum erreichte, ja sogar vom 6. Tage an eine Verminderung eintrat. Vom 12. Tage an nahm die Zahl wieder zu bis zum Eintritt entschieden putrider Zersetzung am 16. Tage. Dasselbe mit Probe 6, deren Mikroorganismen im Wachsthum so gestört wurden, dass ein Theil davon am 14. Tage zu sehr langen Fäden ausgewachsen war und von da an bis zum 20. Tage wieder mehr kurze Stäbchenketten und einzelne Bacterien auftraten. In den Proben 7 und 8 nahm

die Bacterienzahl vom 1. Beobachtungstage an successive ab bis zum 12. Tage; die Bacterien gingen aber unter dem Einflusse der sich stetsfort abspaltenden salicylsauren o-Kresolcomponenten nicht zu Grunde, sondern erreichten diesen gegenüber am 12. Tage schon einen Vortheil und fingen mit dem Tage auch wieder an, sich weiter zu entwickeln, namentlich durch auffälliges Auswachsen zu langen Fäden, weniger oder fast gar nicht durch proliferirende Theilung der kurzen Bacterien. Eine Hemmung blieb aber dennoch, was auch wohl begreiflich, und es war das Verhalten der Mikroorganismen besonders klar in 7 und 8, weniger ein eigentlicher Zerstörungskampf gegen die Antiseptica, als eine Anpassung an dieselben. Freie Salicylsäure war, wie die öfters zur Controle vorgenommenen Reactionen mit Eisenchlorid an kleinen, den Kölbchen entnommenen Flüssigkeitsquantitäten ergaben, in allen Proben sehr bald vorhanden. Wie lange es aber bedurfte, bis in allen 8 Proben das salicylsaure o-Kresol gespalten war, ist schwer zu sagen, weil dieses bei Bruttemperatur eben schon in geschmolzenem Zustande sich befand und da nichts Charakteristisches darbot, wie das in Folgendem zu erwähnende salicylsaure m-Kresol. Der Kölbcheninhalt reagirte

überall sauer; dies ist die hemmende Ursache der Eigenbewegung der Mikroorganismen, wie in allen Proben und zu allen Zeiten beobachtet wurde.

Die zweite Versuchsreihe prüft in ganz analoger Weise das salicylsaure m-Kresol. Acht Proben mit je 20 gr. Fleisch und 10 gr. Wasser in dem salicylsauren m-Kresol in folgenden Quantitäten:

1. Mit 0,02 salicyls. m-Kresol, auf 20 gr. Fleisch = 0,1 %
2. „ 0,05 „ „ „ „ „ „ „ = 0,25 %
3. „ 0,1 „ „ „ „ „ „ „ = 0,5 %
4. „ 0,15 „ „ „ „ „ „ „ = 0,75 %
5. „ 0,2 „ „ „ „ „ „ „ = 1 %
6. „ 0,4 „ „ „ „ „ „ „ = 2 %
7. „ 0,6 „ „ „ „ „ „ „ = 3 %
8. „ 0,8 „ „ „ „ „ „ „ = 4 %

Am 2. Tage hatten 1 und 2 Fäulnissgeruch und eine Unzahl von Bacterien mit und ohne Eigenbewegung; 3 bis 8 waren geruchlos, resp. rochen nach Kresol, zeigten ungefähr gleich starken Gehalt an Mikroorganismen, bloss in Molecularbewegung. Am 3. Tage in 3 und 4 Fäulnissgeruch und entsprechende Unzahl von Mikroorganismen. 5 enthält sehr viele molecular bewegte Stäbchen. Proben 6, 7 und 8 bloss nach Kresol riechend, die Zahl der Stäbchen nicht vermehrt, dagegen in 6 und 7 Kokkenketten und in 8 einzelne Kokken in Molecularbewegung. Am

6. Tage zeigte Probe 5 Fäulnissgeruch; 6, 7 und 8 behielten bis zum Schlusse der Beobachtung am 17. Tage schwachen Kresolgeruch. Am 8. Tage fanden sich in 6 und 7 lange Fäden und wenig kurze Bacterien ohne Eigenbewegung; lange Fäden in 8 erst am 17. Tage und daneben noch unveränderte Krystalle des Esters. Die Zahl der Mikroorganismen hat im Allgemeinen etwas abgenommen, viele gingen in Detritus auf. Sämmtliche Proben reagirten wieder sauer und färbten sich mit Fe_2Cl_6 violett. Die Concentrationen von 0,1%, 0,25%, 0,5%, 0,75% und 1% gingen schon am 7. Tage in Fäulniss über und enthielten dann auch entsprechend hohe Mengen Bacterien; in den 2-, 3- und 4%igen Mischungen fristeten sie ihr Dasein nur mühselig, wuchsen zum Theil zu Fäden aus, zum Theil gingen sie definitiv zu Grunde oder hielten sich in ihrer Zahl als Bacterien stabil. Eine kleine Tabelle erleichtert die Uebersicht über das Auftreten von Fäulnissgeruch in den 8 Proben:

Proben 1 und 2
mit 0,2 und 0,5 salicylsaurem m-Kresol am 2. Tage.
Proben 3 und 4
mit 0,1 und 0,15 „ „ „ „ 3. „
Probe 5
mit 0,2 „ „ „ „ 6. „
Proben 6, 7 und 8 noch nichts bis zum 17. Tage.

Auffällig war in dieser Versuchsreihe das Vorhandensein von vollständig unveränderten Krystallen bis am 17. Tage in der Probe 8. Hier musste also das spaltende Agens in seiner Wirksamkeit erschöpft sein. Bei Annahme von Zerlegung des Esters durch die Spaltpilze selbst nach Analogie mit dem Salol ist sowohl ihre Entartung, bedingt durch den Einfluss der beständig frisch abgespaltenen Salicylsäure und des m-Kresols, als ihr dadurch vermehrtes Unvermögen, im Weiteren die Spaltung des Esters zu besorgen, verständlich, daher sie denn abgeschwächt selbst in 4%iger Mischung weiter zu langen Fäden auswachsen, sich nicht theilen und das Nährsubstrat unter der Imbibition mit Salicylsäure nicht in putride Zersetzung übergeht. Zweifellos hängt die Schwerzersetzlichkeit des Kresols in diesem Falle gegenüber dem salicylsauren o-Kresol von der Höhe des Schmelzpunktes (74° C.) ab.

Endlich die Reihe mit dem salicylsauren p-Kresol. Wieder je 20 gr. Fleisch, 10 gr. Wasser und acht verschiedene Dosen der untenstehenden Substanz:

1. Mit 0,02 salicyls. p-Kresol, auf 20 gr. Fleisch = 0,1 %
2. „ 0,05 „ „ „ „ „ „ „ = 0,25 %
3. „ 0,1 „ „ „ „ „ „ „ = 0,5 %
4. „ 0,15 „ „ „ „ „ „ „ = 0,75 %

5. Mit 0,2 salicylsaurem p-Kresol, auf 20 gr. Fleisch = 1 %
6. „ 0,4 „ „ „ „ „ „ „ = 2 %
7. „ 0,6 „ „ „ „ „ „ „ = 3 %
8. „ 0,8 „ „ „ „ „ „ „ = 4 %

Tag des Eintritts von Fäulnissgeruch in den einzelnen Proben:

In den Proben 1 und 2
mit 0,02 und 0,05 salicylsaurem p-Kresol am 2. Tage;
in der Probe 3
mit 0,1 salicylsaurem p-Kresol am 7. Tage;
in der Probe 4
mit 0,15 salicylsaurem p-Kresol am 8. Tage;
in den Proben 5, 6, 7 und 8
mit 0,2, 0,4, 0,6 und 0,8 salicylsaurem p-Kresol bis zum 20. Tage nicht.

Die Entwicklung von Mikroorganismen ging in 1 bis 4 unbehindert vor sich; sie nahmen stetig an Zahl zu, zeigten aber einen veränderten Vermehrungsmodus, indem in 4 und 5 vom 5. Tage an Fäden zu sehen waren, und in 6, 7 und 8 die von Anfang an in sehr bescheidenem Maasse vorhanden gewesenen Bacterien allmälig ganz zu Grunde gingen und so vom 10. Tage an in Probe 8 keine mehr zu sehen waren. Ueberall die Eigenbewegung aufgehoben, bloss Molecularbewegung, und alle

Proben gaben am Schlusse der Beobachtung mit Eisenchlorid Violettfärbung und hatten saure Reaction. Krystalle waren bald keine mehr vorhanden, wohl aber Tropfen von geschmolzenem p-Kresol. Seine Salicylverbindung muss, dank dem niedrigen Schmelzpunkt von 39° C., ziemlich leicht zersetzbar sein, daher seine Wirkung auch eine vollständigere: Folge davon das absolute Fehlen von Mikroben in der Probe 8 schon vom zehnten Tage an.

Nachdem nun das Verhalten der salicylsauren Kresole gegenüber Fleisch mit Hülfe der beschriebenen Proben untersucht war, wurden nun auch Proben mit Pankreas im gleichen Sinne zubereitet. Dazu verwendete ich Pankreas, das seit der Herausnahme aus dem Thier 24 Stunden an der Luft gelegen hatte, also möglichst viel Ferment enthielt. 480 gr. feingehacktes Pankreas wurden in 24 Dosen zu 20 gr. mit je 10 gr. Wasser getheilt und diese mit gleich starken Quantitäten der 3 salicylsauren Kresole verrieben wie in obigen Versuchen mit Fleisch.

Zunächst die Beobachtungen am salicylsauren o-Kresol:

1. Mit 0,02 salicyls. o-Kresol, auf 20 gr. Pankreas = 0,1 %
2. „ 0,05 „ „ „ „ „ „ „ = 0,25 %
3. „ 0,1 „ „ „ „ „ „ „ = 0,5 %
4. „ 0,15 „ „ „ „ „ „ „ = 0,75 %
5. „ 0,2 „ „ „ „ „ „ „ = 1 %
6. „ 0,4 „ „ „ „ „ „ „ = 2 %
7. „ 0,6 „ „ „ „ „ „ „ = 3 %
8. „ 0,8 „ „ „ „ „ „ „ = 4 %

Es mussten die Proben schon am 4. Tage entfernt werden, weil in allen 8, selbst bei den 4% salicylsaures o-Kresol haltenden, definitive putride Zersetzung aufgetreten ist. Alle 8 reagirten sauer und gaben mit Ferrum sesquichloratum Salicylsäurereaction. Fäulnissgeruch war vorhanden:

In den Proben 1 und 2
am 2. Tage (mit 0,02 und 0,05 salicylsaurem Kresol);
in den Proben 3, 4 und 5
am 3. Tage (mit 0,1, 0,15 u. 0,2 salicylsaurem Kresol);
in den Proben 6, 7 und 8
am 4. Tage (mit 0,4, 0,6 u. 0,8 salicylsaurem Kresol).

Sämmtliche Proben wiesen von Anfang an sehr viele Mikroorganismen auf; sie liessen sich aber unter der Einwirkung des beigefügten Antisepticums in ihrem Wachsthum in beschränktem Maasse beeinflussen. In 6 waren schon am 2. Tage zu Fäden ausgewachsene Bacterien. Die Zersetzung des salicyl-

sauren o-Kresols mit dem niedrigsten Schmelzpunkt muss in diesem Falle besonders rasch vor sich gegangen und beendigt worden sein. Offenbar wurde dadurch den Bacterien und Kokken ein Vortheil geschaffen, indem ein gewisser, rasch erzeugter Gehalt an Salicylsäure und o-Kresol die weitere Enzymbildung und hiemit auch die weitere Verseifung unmöglich machte, so dass sich die Mikroorganismen sozusagen ungestört weiter entwickeln konnten.

Proben des salicylsauren m-Kresols mit Pankreas.

Die 8, 20 gr. Pankreas und 10 gr. Wasser haltenden Proben werden verrieben:

1. Mit 0,02 salicyls. m-Kresol, auf 20 gr. Pankreas = 0,1 %
2. „ 0,05 „ „ „ „ „ „ „ = 0,25 %
3. „ 0,1 „ „ „ „ „ „ „ = 0,5 %
4. „ 0,15 „ „ „ „ „ „ „ = 0,75 %
5. „ 0,2 „ „ „ „ „ „ „ = 1 %
6. „ 0,4 „ „ „ „ „ „ „ = 2 %
7. „ 0,6 „ „ „ „ „ „ „ = 3 %
8. „ 0,8 „ „ „ „ „ „ „ = 4 %

Schon am 3. Tage wiesen Proben 1, 2, 3 und 4 faulige Zersetzung und ungeheure Massen von Mikroorganismen auf, die sich während des Aufenthaltes im Thermostaten entwickelt hatten. Die übrigen Proben enthielten gleichfalls Bacterien, je-

doch in relativ kleinen Quantitäten und nicht todt, was das Vorhandensein von lang ausgewachsenen Fäden in 6, 7 und 8 am 3. Tage bewies. Am 7. Tage befand sich Probe 5 in Buttersäuregährung unter dem Einflusse eines an diesem Tage in grosser Menge anwesenden Kokkus. In Probe 6 haben sich Hefezellen entwickelt und faulige Zersetzung am 12. Tage; in 7 und 8 ist am 7. Tage der Kresolgeruch vollständig verschwunden; auch keine Kresolkrystalle mehr sichtbar, wie überhaupt solche vom 1. Tage an nicht mehr gesehen wurden. Im Vergleich zu den entsprechenden Fleischproben hat sich die Spaltung hier erstens viel rascher und zweitens vollständig gemacht. Es muss daher das Pankreasferment ein besonders energisch spaltendes Agens sein gegenüber den Fäulnissorganismen und die Spaltung ganz selbstständig besorgen, weil es in einer nachfolgenden Tabelle in Bezug auf antiseptische Wirksamkeit der gespaltenen salicylsauren Kresole eine andere Stellung einnimmt, als das Fleisch mit den Spaltpilzen in den Fleischproben; die Spaltung durch Pankreas ist nicht wie da von der Höhe des Schmelzpunktes abhängig.

Proben 7 und 8 blieben bis zum 14. Tage geruchlos.

Versuchsreihe des salicylsauren p-Kresols mit Pankreas.

Die letzten 8 Pankreas-Wassermischungen (20: 10) werden nun endlich mit dem salicylsauren p-Kresol versetzt, und zwar:

1. Mit 0,02 salicyls. p-Kresol, auf 20 gr. Pankreas = 0,1 %
2. „ 0,05 „ „ „ „ „ „ „ = 0,25 %
3. „ 0,1 „ „ „ „ „ „ „ = 0,5 %
4. „ 0,15 „ „ „ „ „ „ „ = 0,75 %
5. „ 0,2 „ „ „ „ „ „ „ = 1 %
6. „ 0,4 „ „ „ „ „ „ „ = 2 %
7. „ 0,6 „ „ „ „ „ „ „ = 3 %
8. „ 0,8 „ „ „ „ „ „ „ = 4 %

Am 3. Tage waren schon 1 und 2 in fauliger Zersetzung, 3 am 4. Tage, 4 am 11. Tage; 6, 7 und 8 am 14. Tage noch ohne specifischen Fäulnissgeruch. In Bezug auf Mikroorganismen zeigten 1, 2 und 3 am 2. Tage viele einzelne Stäbchen, 4 schon lang ausgewachsene Bacterien; 5, 6, 7 und 8 wenige Stäbchen, etwas mehr Fäden, auch hier ganz ohne Eigenbewegung. Vom 7. Tage an nahm ihre Zahl in den Proben 6, 7 und 8 quantitativ ab; am 9. Tage waren in 6 Sarcinen, Kokken, Hefezellen und Bacterien in mässiger Menge, in 7 mässig viele Bacterien und in 8 ganz vereinzelte Stäbchen. 4 und 5 wimmelten von Bacterien, Kokken, Kokkenketten. Am 14. Tage

in 4 und 5 sehr viele Mikroben, meist einzelne Stäbchen und Kokken; in 6 wenig Fäden und Bacterien in Molecularbewegung, in 7 wenig ganz ruhige und einige in Molecularbewegung befindliche Stäbchen und Fäden; in 8 wenig einzelne, kürzere und längere, körnige Stäbchen, auch einzelne Fäden.

Das salicylsaure p-Kresol, zweifellos auch in seine Constituenten zersetzt durch Pankreas, vermag die Mikroorganismen in ihrem Wachsthum und Vermehrung ebenfalls zu beschränken; es ist aber nur entwicklungshemmend, hält, wie seine Isomeren, in erster Linie die echt faulige Zersetzung ab und greift in das Thun und Treiben der Mikroorganismen nur in Concentrationen von 1, 2, 3 und 4 % ein. Da zwingen seine Componenten die Bacterien zu einem andern Vermehrungsmodus. 2, 3 und 4 % zerstören das Leben eines Theiles der Mikroorganismen ganz und gar, so dass also ihre Zahl abnimmt.

Die Schlüsse, welche aus den Tabellen über die salicylsauren Kresole an und für sich und unter einander gezogen werden können, sind folgende: Die isomeren, salicylsauren Kresole haben, was gemäss ihrer Zusammensetzung vorauszusehen war, in der That gewisse antifermentative Eigenschaften,

und zwar in dem Sinne, dass sie zunächst desodorisirend wirken, indem der Fäulnissgeruch in den untersuchten Proben immer erst einige Tage nach auffällig starker Vermehrung der Mikroorganismen auftrat. In zweiter Linie wirken sie relativ antiseptisch, vernichten die Fähigkeit der Bacterien, sich auf gewöhnliche Weise durch Theilung zu vermehren; denn schon innerhalb weniger Tage zeigten sich in allen drei Versuchsreihen mit Fleisch lange Fäden. Die Mikroben werden nicht getödtet, und die salicylsauren Kresole wirken, wie das Salol, nur entwicklungshemmend. Diese Eigenschaft macht sich erst geltend, wenn die Ester in ihre Componenten gespalten sind, und dass dies geschieht, beweisen ja in allen Proben — Fleisch und Pankreas — die Salicylsäurereactionen. Gespalten werden die salicylsauren Kresole in den Fleischproben sowohl durch das Fleisch selbst, als auch durch die Spaltpilze, das geht aus der erwähnten Beobachtung von salicylsauren m-Kresolkrystallen in den Fleischproben hervor. Das Pankreas zersetzte die salicylsauren Kresole viel rascher und vollständiger. Die im Allgemeinen nach dem gleichen Modus gehenden Veränderungen in den sechs Versuchsreihen zeigen in den Pankreasproben Beschleunigung, ist doch

z. B. mit salicylsaurem o-Kresol die ganze Pankreasreihe schon am 4. Tage vollständig in fauliger Zersetzung, während mit Fleisch bis zum 23. Tage bloss 6 Proben in fauliger Zersetzung sind, d. h. das zersetzungsfähigere Pankreas bedarf jedenfalls viel stärkerer Concentrationen mit den salicylsauren Kresolen, als das Muskelfleisch.

Ein Vergleich der drei salicylsauren Kresole unter einander ergibt ferner Differenzen in ihrer antiseptischen Wirksamkeit. Das am niedrigsten schmelzende und am leichtesten zersetzliche salicylsaure o-Kresol ist — mit Pankreas — das schwächste, wenn wir das Auftreten von entschiedenem Fäulnissgeruch in den Proben als Maassstab nehmen, und das salicylsaure p-Kresol ist das stärkste, trotzdem sein Schmelzpunkt unter dem des salicylsauren m-Kresols steht. Die Intensität der antiseptischen Wirkung ist hier also direct proportional der Entfernung der Methylgruppe von der Salicylsäure in dem Ester.

Zum Vergleich mag folgende Tabelle dienen mit der Angabe des Tages, an welchem in den Proben zuerst der Fäulnissgeruch bemerkbar war.

A. In den Pankreasproben.

Tage	Salicylsaures o-Kresol	Salicylsaures m-Kresol	Salicylsaures p-Kresol
2. Tag	Proben 1 u. 2		
3. Tag	Proben 3, 4 und 5	Proben 1, 2, 3 und 4	Proben 1 u. 2
4. Tag	Proben 6, 7 und 8	Probe 5 (stark sauer riechend)	Probe 3
7. Tag		Probe 5 in Buttersäure-gährung	
11. Tag			Probe 4
14. Tag		Proben 6, 7 und 8 *nicht* faulig riechend	Proben 5, 6, 7 u. 8 *nicht* faulig riechend

Etwas anders gestaltet sich das Verhältniss, wenn die salicylsauren Kresole durch Mikroorganismen gespalten werden. Da ist nämlich die m-Verbindung die schwächste, die p-Verbindung die beste, und die o-Verbindung steht in der Mitte. Es mag

die Höhe des Schmelzpunktes eine Rolle spielen, welche bei der Spaltung durch das besonders energisch, um nicht zu sagen beinahe specifisch wirkende Pankreas nicht in Frage kommt.

Folgende Tabelle gibt wieder übersichtlich den Tag des Auftretens von Fäulnissgeruch an.

B. In den Fleischproben.

Tage	Salicylsaures o-Kresol	Salicylsaures m-Kresol	Salicylsaures p-Kresol
2. Tag	Probe 1	Proben 1 u. 2	Proben 1 u. 2
3. Tag	Probe 2	Proben 3 u. 4	
6. Tag		Probe 5	
7. Tag	Probe 3		Probe 3
8. Tag	Probe 4		
9. Tag			Probe 4
16. Tag	Probe 5		
18. Tag	Proben 6, 7 und 8 *nicht* faulig riechend	Proben 6, 7 und 8 *nicht* faulig riechend	Proben 5, 6, 7 und 8 *nicht* faulig riechend

Wenn auch in diesen Reihen das salicylsaure m-Kresol gegenüber der para-Verbindung eine inferiore Stellung einnimmt, so wird es doch möglicherweise als Arzneimittel, speciell zu Streupulvern verwendet, eine bevorzugtere Stellung einnehmen und dies wegen seiner physikalischen Eigenschaften (Leichtigkeit, feines Pulver schon im reinen, krystallisirten Zustand, ballt sich nicht) und der immerhin ziemlich bedeutenden Kraft, mit der es desodorisirend wirkt.

Endlich bleibt noch ein Vergleich zu ziehen zwischen der antiseptischen Wirksamkeit der isomeren Kresole mit dem Salol. Derselbe misst eigentlich indirect die Kresole im Verhältniss zum Phenol; die Salicylsäure unterstützt gewiss beider Einfluss, macht aber nicht die Differenz aus.

Ich habe nun am selben Tage von einem Stück Fleisch 20 Proben zu 10 gr. mit 5 gr. Wasser hergestellt und je 5 von diesen Proben 1. mit Salol, 2. mit salicylsaurem o-Kresol, 3. mit salicylsaurem m-Kresol und 4. mit salicylsaurem p-Kresol vermischt, und zwar in folgenden Verhältnissen:

1.	10 gr.	Fleisch,	5 gr.	Wasser	mit	0,05	Ingrediens
2.	10 gr.	„	5 gr.	„	„	0,1	„
3.	10 gr.	„	5 gr.	„	„	0,2	„

4. 10 gr. Fleisch, 5 gr. Wasser mit 0,3 Ingrediens
5. 10 gr. „ 5 gr. „ „ 0,4 „

Die 4 Reihen werden im Thermostaten aufbewahrt und, wie gewohnt, alle Tage untersucht. Aus dem genau nachgeführten Protokoll ergab sich Folgendes:

Am 3. Tage riecht schon Probe 1 der salicylsauren o-Kresolreihe faulig.

Am 6. Tage riecht Probe 1 der Salolreihe faulig.

Am 8. Tage riecht Probe 1 der salicylsauren p-Kresolreihe faulig.

Am 15. Tage riecht Probe 1 der salicylsauren m-Kresolreihe faulig.

Was die desodorisirende Wirkung des Salols anbelangt, so scheint es nach diesem Anfang unter dem salicylsauren m- und p-Kresol zu stehen und es ist dies wohl denkbar. In Bezug aber auf Einfluss gegenüber den Mikroorganismen stellt es sich anders: da sehen wir nämlich am 2. Tage in Probe 1 mit Salol am wenigsten, in der entsprechenden salicylsauren p-Kresolprobe einen mittleren und in den salicylsauren o- und m-Kresolproben den höchsten Gehalt an Mikroorganismen. Bis am 3. Tage haben die Zahlen in entsprechendem Verhältniss zuge-

nommen; Probe 3 der Salolreihe wies nur sehr wenig Bacterien, jedenfalls nicht mehr, als von Anfang an vorhanden waren, auf; in 4 und 5 keine. Am selben Tage enthielt Probe 3 der salicylsauren o-Kresolreihe viele, meist einzelne Bacterien, Probe 4 ein bescheideneres Quantum, 5 wenige Stäbchen und einige Fäden. Die salicylsauren m-Kresolproben 3, 4 und 5 enthielten alle ziemlich viel Bacterien und Fäden, 5 namentlich sehr viele unzerlegte Krystalle, 4 nur selten solche und in den untern Concentrationen keine mehr. In der salicylsauren p-Kresolreihe ganz dieselben Verhältnisse wie in der salicylsauren o-Kresolreihe, nur die Zahl der Mikroorganismen noch reducirter. Im weiteren Verlauf hält sich auch wirklich Salol am besten. Am 10. Tage z. B. zeigt Probe 2 folgenden Befund: geruchlos, wenige körnige Bacterien, bloss in Molecularbewegung. Probe 2 der salicylsauren o-Kresolreihe: geruchlos, viele einzelne Bacterien in Molecularbewegung. Probe 2 der salicylsauren m-Kresolreihe: geruchlos, sehr viele Mikroorganismen aller Arten, namentlich einzelne Bacterien ohne Eigenbewegung. Probe 2 der salicylsauren p-Kresolreihe: geruchlos, wenige einzelne Bacterien und Bacterienketten in Molecularbewegung.

Bis am 15. Tage ist in der *Salolreihe*

Probe 2 geruchlos, ziemlich viel Bacterien und Kokken nur in Molecularbewegung.

„ 3 geruchlos, ganz vereinzelt ein ausgewachsenes Bacterium, einige ganz körnige in Molecularbewegung.

„ 4 geruchlos, keine Mikroorganismen.

„ 5 „ „ „

Am 15. Tage ist in der *salicylsauren o-Kresolreihe*

Probe 2 geruchlos. Etwas weniger molecular bewegte Bacterien und lange Fäden als vor 2 Tagen (damals ziemlich viele Bacterien).

„ 3 geruchlos. Ziemlich viel Bacterien in Molecularbewegung. Auch Fäden.

„ 4 geruchlos. Wenig einzelne Bacterien und ausgewachsene Fäden.

„ 5 ganz schwacher Kresolgeruch. Tropfen des geschmolzenen Kresols. Keine Mikroben.

Am 15. Tage ist in der *salicylsauren m-Kresol-reihe*

Probe 1 faulig riechend. Unzahl Kokken und Stäbchen in Molecularbewegung.

„ 2 geruchlos, sehr viele Mikroorganismen ohne Eigenbewegung.

„ 3 geruchlos, namentlich ziemlich viele zu langen Fäden ausgewachsene Bacterien. Molecularbewegung.

„ 4 schwach Kresolgeruch. Ziemlich viele einzelne Bacterien und Fäden ohne Eigenbewegung.

„ 5 Kresolgeruch. Wie voriges.

Am 15. Tage ist in der *salicylsauren p-Kresol-reihe*

Probe 2 geruchlos, ziemlich viel Kokken; weniger Bacterien in Molecularbewegung.

„ 3 geruchlos. Sehr wenig todte Mikroorganismen.

„ 4 Kresolgeruch. Wenig Mikroorganismen.

„ 5 Kresolgeruch. Sehr wenig Bacterien und Fäden in schwacher Molecularbewegung.

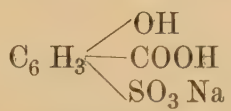
So viel zu ersehen, ist Salol den salicylsauren Kresolen überlegen, obschon speciell zwischen ihm und dem salicylsauren p-Kresol keine grosse Differenz besteht. Während in den höheren Salolconcentrationen von 3, 4 und 5%, dessgleichen in den entsprechenden salicylsauren p-Kresolproben die Mikroorganismen allmälig verschwinden und dies auch für Probe 5 der salicylsauren o-Kresolreihe bis am 16. Tage der Fall ist, zeigen 3 und 4 dieser, und 3, 4 und 5 der salicylsauren m-Kresolreihe Weiterentwicklung von Mikroben, und zwar namentlich Auswachsen zu langen Fäden, also Entwicklung mit Hemmung. Salicylsaures m-Kresol als das am schwersten spaltbare, wenn unter dem Einfluss der gewöhnlichen Fäulnissbacterien stehend, hat mit 3%iger Mischung die Bacterien schon so geschwächt, dass sie ihre fermentative, spaltende Kraft am 16. Tage vollständig verloren haben, $^1/_4$ des beigefügten salicylsauren m-Kresols ganz unzerlegt bleibt, wenigstens sind nur noch in Probe 5 Krystalle sichtbar. Alle Proben gaben vom 1. Tage an Salicylsäurereaction und färbten blaues Lakmuspapier roth.

Aus allen diesen Versuchen geht hervor:

1. Die salicylsauren Kresole sind entschieden Antiseptica in ihrer Wirkung analog dem Salol.
2. In Mischungen mit Pankreas erweist sich salicylsaures o-Kresol am schwächsten, salicylsaures p-Kresol am stärksten antiseptisch; mit Fleisch salicylsaures m-Kresol am schwächsten und salicylsaures p-Kresol am stärksten.
3. Mit Salol verglichen sind die salicylsauren Kresole schwächer.

II.

Das saure salicylsulfonsaure Natrium



ist eine weisse krystallinische, in Wasser leicht lösliche, in Alcohol wenig, in Aether unlösliche und geruchlose Substanz mit saurem Geschmack. Wässerige Lösungen geben mit $Fe_2 Cl_6$ intensive Salicylsäurereaction.

Zur Prüfung der antiseptischen Wirkung werden folgende Versuche angestellt: 10 gr. feingehacktes Fleisch werden mit 20 gr. Lösung des Salzes von folgenden Concentrationen vermischt, in den Thermostaten gebracht und täglich untersucht:

1. 20 gr. Wasser mit 0,01 gr. salicylsulfonsaurem Na = 0,05 % Lösung.
2. 20 gr. Wasser mit 0,02 gr. salicylsulfonsaurem Na = 0,1 % Lösung.

3. 20 gr. Wasser mit 0,05 gr. salicylsulfonsaurem Na = 0,25 % Lösung.
4. 20 gr. Wasser mit 0,1 gr. salicylsulfonsaurem Na = 0,5 % Lösung.
5. 20 gr. Wasser mit 0,2 gr. salicylsulfonsaurem Na = 1 % Lösung.

Am folgenden Tage waren alle 5 Proben geruchlos, enthielten keine Bacterien, wohl aber Mikrokokken in Molecularbewegung und zwar die schwächer concentrirten eo ipso am meisten. Am 3. Tage rochen Proben 1 und 2 schon faulig, in allen 5 Proben sehr viele Stäbchen, doch ohne Eigenbewegung, auch Mikrokokkenketten. Probe 3 fand ich am 4. Tage faulig, alle andern Proben wimmelten von Bacterien und Mikrokokken. Am 9. Tage rochen Proben 4 und 5 faulig; erstere enthielt neben Unmengen kurzer Stäbchen viele lange Fäden nur in Molecularbewegung, und in letzterer waren viele Bacterien im Begriffe, zu Fäden auszuwachsen. Ihre Zahl im Zunehmen. Da alle 5 Proben definitiv bis am 9. Tage in putride Zersetzung übergegangen sind, wurde die weitere Beobachtung unterbrochen. Die Proben reagirten sauer und überall entstand bei $Fe_2\,Cl_6$-Zusatz eine Violettfärbung.

Die vorliegende Versuchsreihe beweist, dass Gehalt von saurem salicylsulfonsaurem Na von 0,1—1% Concentration auf Fleisch berechnet in keinem Falle im Stande ist, die Entwicklung von Mikroorganismen zu verhindern, dass diese vielmehr sich lebhaft vermehren, die am wenigsten durch das beigefügte Salz beeinflussten in normaler Weise durch directe Theilung, die am ungünstigsten situirten durch Auswachsen zu langen Fäden. Der Verlust der Eigenbewegung ist zurückzuführen auf den Einfluss der Acidität. Wenn nun Salicylsäure in Lösungen von 1—2‰ schon gut antiseptisch und antifermentativ ist, so steht das saure salicylsulfonsaure Natrium jedenfalls in dieser Beziehung bedeutend darunter, wenn auch vermöge des freien Salicylsäureradicals über dem Natriumsalicylat.

Was die Dosirung des Salzes anbetrifft, so vertrug ein mittelgrosser, gutgenährter Hund drei Tage nach einander je sechs Gramm ohne jeglichen Schaden, und aus der medicinischen Klinik wurde mir Urin von einem Patienten mit acutem Gelenkrheumatismus, welcher pro die acht Gramm von der Substanz erhielt und keine bedrohlichen Erscheinungen zeigte, zugestellt.

Die Fütterungsversuche, angestellt zum Zwecke der Untersuchung der Ausscheidungsform des Salzes, sind beim Hunde unter zwei Malen vorgenommen worden und hatten je zu einem andern Resultate geführt. Das Verfahren, um die resp. Substanzen aus dem Harn zu isoliren, war folgendes: Ein Hund hatte 8 gr. saures salicylsulfonsaures Na erhalten. Sein Urin färbte sich mit $Fe_2\ Cl_6$ rothviolett und ward zu Syrupdicke eingedampft, mit Alcohol ausgezogen, das Extract mit $H_2\ SO_4$ angesäuert, und mit Aether geschüttelt. In der vom Aether getrennten Schicht bildete sich nach längerer Zeit ein krystallinischer Niederschlag, welcher von der umgebenden, syrupdicken Lauge abfiltrirt, in Wasser gelöst, mit Thierkohle gereinigt und mehrere Male umkrystallisirt wurde. Es blieb eine röthliche, krystallinische Masse, die sich unter dem Mikroskop als aus feinen, langen Nadeln, übereinstimmend mit den umkrystallisirten Nadeln der verfütterten Substanz, darstellte. Sie wurde zwischen Fliesspapier von der wenig reichlichen Lauge abgepresst und über $H_2\ SO_4$ getrocknet. Eine Spur von dieser Substanz in Wasser gelöst und mit $Fe_2\ Cl_6$ versetzt, färbte sich stark rothviolett. Beim Verbrennen auf dem Platinblech entwickelte sich Benzo-

nitrilgeruch und blieb wenig weisse Asche; sie stellte sich durch die Reaction mit Baryumchlorid als schwefelsaures Na vor. Der Versuch bewies hiemit, dass die Substanz N, S und Na enthielt. Um sie möglichst rein zu erhalten, wurde sie nochmals umkrystallisirt und bis zur Erlangung absoluter Constanz längere Zeit hindurch im Exsiccator aufbewahrt. Zum nochmaligen Nachweis von N wurde dann ein wenig davon mit metallischem Na geglüht, wobei sich Cyannatrium bildete. Dieses in wässriger Lösung gab mit einer Lösung von Eisenoxydoxydulsalz einen schwarzen Niederschlag, der sich nach Zusatz von reiner H Cl in Berlinerblau verwandelte, was die Anwesenheit von N in der Substanz absolut bewies. Gleichzeitig entwickelte sich Geruch nach H_2 S, also auch S musste sicher vorhanden sein.

Zunächst wurde die Substanz quantitativ auf N geprüft, und zwar volumetrisch nach der Verbrennungsmethode von Dumas. Dabei gaben 0,2402 gr. Substanz bei 712 mm. Hg und 18° C. über 25%iger HKO: N = 20 ccm. Daraus in der Substanz N = 9,03%.

Eine Bestimmung des Natrium von 0,2662 gr. Substanz durch Glühen und Wägen des Na_2 SO_4 =

Rückstandes im Platintiegel ergab einen Gehalt an $Na_2 SO_4$ von 23,59 %; daraus berechnet Na = 7,64 % und S = 10,62 %.

Bestimmung des C- und H-Gehaltes von 0,2068 gr. Substanz aus der bei der Verbrennung resultirenden CO_2 und $H_2 O$ ergab C = 30,21 % und H = 3,46 %.

Diese Zahlen stimmen mit der Annahme, dass die Substanz eine Addition von reinem verfütterten sauren salicylsulfonsaurem Na mit 1 Molecül Harnstoff und 1 Molecül $H_2 O$ ist, also die Formel hat:

$$C_6 H_3 \begin{cases} OH \\ COOH \\ SO_3 Na \end{cases} + CO \begin{cases} NH_2 \\ NH_2 \end{cases} + H_2 O \text{ Aequ.} = 318$$

Diese empirische Formel erfordert:		Gefunden:	
N =	8,80 %	N =	9,03 %
Na =	7,29 %	Na =	7,64 %
C =	30,17 %	C =	30,21 %
H =	3,45 %	H =	3,46 %
O =	40,25 %	O =	Differenz.
S =	10,06 %	S =	10,62 %

Bei der Annahme dieser Construction musste es auch möglich erscheinen, den Harnstoff in der

Substanz direct nachzuweisen. Zu dem Zwecke wurde ein Partikel auf einem Objectträger in Wasser gelöst, mit reiner HNO_3 versetzt und stehen gelassen. Nach geraumer Zeit schieden sich die charakteristischen Krystalle des salpetersauren Harnstoffs aus, d. h. schimmernde sechseckige Blättchen, denen gegenüber eine umkrystallisirte Controlprobe des unverfütterten, reinen Na-Salzes die langen hexagonalen Tafeln lieferte, wie sie ihm zukommen.

Die Schmelzpunktbestimmung der Substanz zeigte Folgendes: Bei 142° C. fängt sie an, sich zu bräunen, bei 270° C. hebt sie sich und wird bei 295° C. flüssig. Sie schmilzt ohne Gasentwicklung. Sie ist endlich in Alcohol, sowohl kaltem als heissem, unlöslich.

Ein zweites Mal bekam derselbe Hund innerhalb 4 Tagen 20 gr. saures salicylsulfonsaures Na. Sein Urin gab wieder mit $Fe_2\ Cl_6$ die charakteristische Rothfärbung und wurde auf dieselbe Weise eingedampft, mit Alcohol ausgezogen; das alcoholische Extract durch Abdampfen auf dem Wasserbade von Alcohol befreit; der syrupdicke, mit $H_2\ SO_4$

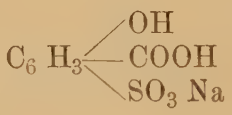
angesäuerte Rückstand mit Aether geschüttelt und stehen gelassen. Auffallender Weise schied sich dabei die gesuchte Substanz nicht wie das erste Mal krystallinisch aus, sondern blieb in der unter Aether stehenden, dicken Lauge in Lösung. Da nun zu vermuthen war, dass die beigefügte $H_2 SO_4$ ihr Auskrystallisiren verhinderte, wurde die Lauge nach Abfiltriren des mittlerweile ausgeschiedenen Harnstoffs mit essigsaurem Na neutralisirt und in dem Zustande 5 Monate stehen gelassen. Während dieser Zeit bildete sich am Boden der Schale eine Krystallmasse, die zum grössten Theil aus Harnstoff, zum kleineren Theil aus weissen drusenartigen Massen bestand. Diese hatten äusserlich grosse Aehnlichkeit mit dem aus dem ersten Hundeharn dargestellten Ausscheidungsprodukt des sauren salicylsulfonsauren Na und gaben dessgleichen in wässeriger Lösung mit Eisenchlorid die charakteristische Rothfärbung. Sie wurden von dem Harnstoff durch heissen Alcohol getrennt, mehrere Male aus wässeriger Lösung umkrystallisirt und schliesslich als rein weisses Pulver über Schwefelsäure getrocknet. Nach 5 Tagen war die Substanz constant und konnte des Genaueren untersucht werden. Sie schmolz bei 295 ^{0} noch nicht. Eine Verbrennung auf dem Platinblech er-

gab vorläufig die Abwesenheit von N, es blieb ein weisser Rückstand von $Na_2\ SO_4$.

0,2523 gr. Substanz hinterliess 0,1059 gr. Na_2SO_4, enthielt also 41,97 % $Na_2\ SO_4$ und daraus berechnet einen Procentgehalt an Na = 13,59 % und S = 9,45 %. Eine quantitative Stickstoffbestimmung ergab ein durchaus negatives Resultat. Jedenfalls musste in diesem Falle die Substanz etwas ganz Anderes sein als das erste Mal. Eine Schwefelbestimmung durch Glühen der Substanz mit Kali und Salpeter ergab in 0,2736 gr. Substanz 0,2437 gr. schwefelsaures Baryum und daraus berechnet sich der S-Gehalt von 12,24 %. Eine analoge 2. Bestimmung ergab in 0,2728 gr. Substanz einen Rückstand an $Ba\ SO_4$ von 0,2521 gr., also einen S-Gehalt von 12,92 %. Die Differenz des ersten Resultates gegenüber dem zweiten muss auf mehrmaliges Umfiltriren zurückgeführt werden, wobei natürlich immer trotz sorgfältigsten Nachwaschens etwas von dem Niederschlag verloren gehen musste.

Verbrennung behufs Bestimmung des C- und H-Gehaltes ergaben aus 0,2586 gr. Substanz = 0,0582 gr. H_2O und 0,3097 gr. CO_2, daraus H = 2,5 % und C = 32,66 %.

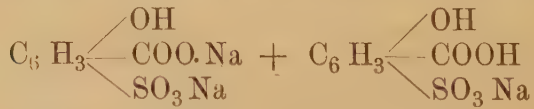
In Folge Abwesenheit von N musste gemäss den Ergebnissen der Untersuchungen zunächst an die Ausscheidung des verfütterten Salzes als solches gedacht werden. Seine Formel mit dem Aequivalent 240 erfordert:



Aequ. 240.

	Gefunden wurden in der Substanz:
Na = 9,58 %	Na = 13,59 %
S = 13,33 %	S = 12,24 %
	und 12,92 %
C = 35 %	C = 32,66 %
H = 2,08 %	H = 2,5 %

Dass die reine Säure, die Salicylsulfonsäure vorliegt, ist ausgeschlossen, weil in der Substanz Na = 13,59 % gefunden wurde. Am besten stimmen die Zahlen mit der Annahme der Formel:



$= C_{14} H_9 Na_3 S_2 O_{12}$ Aequ. 502.

Diese Formel fordert:

Na = 13,7 %
S = 12,75 %
C = 33,46 %
H = 1,75 %
O = 38,24 % Differenz.

Die Formel C_{14} H_9 Na_3 S_2 O_{12} + $^1/_2$ H_2 O Aequ. 511 fordert:

Na = 13,5 %
S = 12,52 %
C = 32,7 %
H = 1,96 %
O = 39,13 % Differenz.

Diese Zahlen stimmen mit den schon gefundenen noch besser überein. Die Differenzen dürfen auf geringe Unreinigkeiten der Substanz zurückgeführt werden, und es scheint demnach, dass in diesem zweiten Falle das saure salicylsulfonsaure Na als Gemisch von doppelt und einfach neutralisirtem Salz + $^1/_2$ Wasser durch den Urin ausgeschieden wurde, wogegen es im ersten Falle also rein mit einem Molecül Harnstoff und Wasser zum Vorschein kam. Die Gründe dieses auffälligen Verhaltens sind einst-

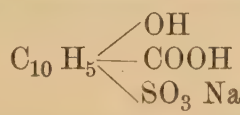
weilen unbekannt; dass ein Unterschied bestehen musste, ging schon aus dem ganz verschiedenen Verhalten der Substanz im Urin hervor, wobei es in dem einen Falle mit Leichtigkeit gelang, die Substanz zu isoliren, im anderen es auffallend langer Zeit bedurfte, bis etwas Positives erhalten wurde.

Eine dritte Verfütterung am Hunde wurde vor nicht langer Zeit vorgenommen. Aus dem wie in 2 verarbeiteten Urin hat sich noch keine Spur ausgeschieden, dessgleichen aus Menschenharn, der mir aus der Klinik zur Verfügung gestellt worden ist und das Ausscheidungsprodukt von circa 30 gr. saurem salicylsulfonsaurem Na enthalten soll.

III.

Die soeben gewonnenen interessanten Resultate über das saure salicylsulfonsaure Na mochten wohl Veranlassung zu einer analogen Untersuchung des α-oxynaphtolsulfoncarbonsauren Na und dessen Ausscheidungsform aus dem Organismus geben.

Dieses saure Natronsalz besitzt die Formel



und wird aus der reinen Säure durch Neutralisiren mit ausgeglühter Soda im Verhältnisse von 5 : 1 dargestellt. Es ist ein feines, mehliges, röthlich gefärbtes und geruchloses Pulver von unangenehmem bitter-adstringirendem Geschmack. Es löst sich in kaltem Wasser, leichter in warmem, nicht in Alcohol. Wässerige Lösungen färben sich mit $Fe_2 Cl_6$ intensiv dunkelblau. In Capillarröhrchen schmilzt das Salz bei 292° noch nicht.

Parallel den Versuchen mit dem sauren salicylsulfonsauren Na wurden auch mit dieser Verbindung antiseptische Versuche angestellt, und zwar je 10 gr. feingehackten Fleisches mit 20 gr. Lösung des Salzes von folgenden Concentrationen vermischt und bei Bruttemperatur stehen gelassen:

1. 20 gr. Wasser mit 0,01 α-oxynaphtolsulfonsaurem Na = 0,05 % Lösung.
2. 20 gr. Wasser mit 0,02 α-oxynaphtolsulfonsaurem Na = 0,1 % Lösung.
3. 20 gr. Wasser mit 0,05 α-oxynaphtolsulfonsaurem Na = 0,25 % Lösung.
4. 20 gr. Wasser mit 0,1 α-oxynaphtolsulfonsaurem Na = 0,5 % Lösung.
5. 20 gr. Wasser mit 0,2 α-oxynaphtolsulfonsaurem Na = 1 % Lösung.

Am folgenden Tage befanden sich schon die Proben 1, 2 und 3 in ausgesprochen fauliger Zersetzung, enthielten alle drei, sowie auch 4 und 5 viele Mikrokokken allein und in Ketten in Molecularbewegung. Vom 3. Tage an waren in allen 5 Proben Stäbchen in reichlichem Maasse vorhanden und nahmen bis zum 9. Tage, wo die Versuchsreihe unterbrochen wurde, successive an Zahl zu; am Schluss der Beobachtung wimmelten sämmtliche Präparate buchstäblich von lebendigen Mikroorga-

nismen, und zwar waren in 4 und 5 vom 4. Tage an auch Bacterien zu langen Fäden ausgewachsen beobachtet worden. Probe 4 roch am 6. Tage zuerst faulig und Probe 5 am 9. Tage. Alle reagirten sauer und färbten sich mit $Fe_2\ Cl_6$ schwarzblau.

Im Vergleich mit dem sauren salicylsulfonsauren Na hat das α-oxynaphtolcarbonsulfonsaure Na weniger antiseptische und antifermentative Kraft. Der Tag des Eintritts von Fäulnissgeruch in den entsprechenden Proben der beiden Reihen ist derselbe, und überall vermochte die zugesetzte Substanz nicht, die überaus reichliche Entwicklung von Mikroorganismen abzuhalten. Einzig eine rapidere numerische Zunahme derselben in den Naphtolsalzproben schien nach ungefährer Schätzung zu bestehen.

Direct entwicklungshemmenden Einfluss haben in schwachem Grade bloss die Proben 4 und 5 mit 1 und 2 % Salzgehalt auf Fleisch berechnet, indem in ihnen Bacterien zu Fäden auswuchsen. Nichtsdestoweniger enthielten sie am 9. Tage noch reichlich einzelne Stäbchen und Kokken. Nur in den wenigst gesättigten Mischungen zeigten die Mikroorganismen beim Eintritte ausgesprochen pu-

trider Zersetzung Eigenbewegung, sonst bloss Molecülarbewegung.

Fütterungsversuche: Innerhalb 4 Tagen wurden einem grossen, starken, jedoch unter dem Einfluss von vorausgegangenen, verschiedenfältigen Fütterungsversuchen augenblicklich etwas matten Hunde 20 gr. α-oxynaphtolcarbonsulfonsaures Na verabreicht. Zeichen von vermehrtem Uebelbefinden wurden an dem Thiere nicht beobachtet, der Urin enthielt kein Albumen, wohl aber färbte er sich mit Eisenchlorid schwarz. Er wurde unter drei Malen zu Syrupdicke eingedampft, mit Alcohol extrahirt, durch Destillation von demselben befreit und so die 3. Portion stehen gelassen. Dabei krystallisirte eine reine Schicht von Harnstoff aus, wovon eine dicke, sich mit $Fe_2\,Cl_6$ intensiv schwarzblau färbende Lauge abgegossen wurde. Ohne Weiteres wurde dieselbe mit Aether geschüttelt und in einer Flasche stehen gelassen. Da sich nach drei Tagen noch kein krystallinischer Niederschlag gezeigt: Ansäuern mit einigen Tropfen reiner HCl, — weiters Abwarten. Nach zwei Tagen hat sich in der unter Aether stehenden, sauer reagirenden Schicht wirklich ein krystallinischer Bodensatz gebildet; er wird nach Abgiessen des Aethers von der dickflüssigen Lauge

abfiltrirt und stellt sich, ein sandiges Mehl, unter dem Mikroskop als aus farblosen Rechtecken und stumpfen Nadeln bestehend dar; letztere ohne jegliche Aehnlichkeit mit Harnstoff. Es färbte sich nur die abfiltrirte Aetherlauge mit Fe_2 Cl_6, die Krystalle reagirten nicht darauf. Im weitern Verlaufe der Untersuchung stellte es sich heraus, dass sie aus Allantoïn bestanden. Auf dem Platinblech in kurzer Zeit verbrannt, hinterliessen sie keinen Rückstand, charakteristische Dämpfe nach Benzonitril entwichen nicht. Die Substanz gab mit der schon beim salicylsulfonsauren Na erwähnten Reaction Berlinerblau, mit Nitroprussidnatrium aber keine Violettfärbung, was die Anwesenheit von N und Abwesenheit von S entschied. Die Substanz bräunte sich bei 205° C., blähte sich bei 215° und schmolz unter Gasentwicklung und vollständiger Zersetzung bei ungefähr 220° C.

Krystallwasser enthielt sie keines, denn sie war nach 2 Stunden Aufenthalt im Trockenkasten bei 105° C ebenso schwer wie vorher. Bei ruhigem Stehenlassen entstanden in gesättigter wässeriger Lösung lange, farblose, prismatische Krystalle. Eine Elementaranalyse des N-Gehaltes ergab von 0,1046 gr. Substanz über 25% HKO bei 715 mm. Hg, einer

Temperatur von 18,25° C. N = 34,4 ccm., daraus berechnet einen N-Gehalt der Substanz von = 35,71 %. Und bei der H- und C-Bestimmung gaben 0,1988 gr. Substanz = 0,2193 gr. CO_2 und 0,0730 gr. H_2O, was einem C-Gehalt der Substanz von 30,08 % und einem H-Gehalt von 4,08 % entspricht.

Die Formel für Allantoïn $C_1 H_6 N_1 O_3$ Aequ. 158

fordert:	Gefunden wurden:
C = 30,37 %	C = 30,08 %
H = 3,79 %	H = 4,08 %
N = 35,44 %	N = 35,71 %

Die Zahlen entsprechen der Vermuthung, dass in der That hier Allantoïn vorliegt, und werden noch erhärtet durch die verschiedenen Reactionen, welche mit der Substanz angestellt wurden. In erster Linie ihre Löslichkeitsverhältnisse: Sie erwies sich als in kaltem H_2O schwer, in warmem leicht löslich und fiel nicht aus bei Zusatz von absol. Alcohol. Lösungen reagirten neutral, Silber- und Bleilösungen gaben Niederschläge der respectiven Salze etc.

Allantoïn fand *Salkowski* im Hundeharn mitunter in ansehnlichen Mengen, in anderen Fällen fehlte es. Constant fand er es aber bei Hunden

nach Fütterung mit Harnsäure. Nach *Frerichs* und *Städeler* findet sich Allantoïn im Hundeharn nach künstlichen Respirationsstörungen. Im vorliegenden Falle muss es als ein Stoffwechselproduct des Hundes und nicht im Zusammenhang stehend mit der Verfütterung des α-oxynaphtolcarbonsulfonsauren Na aufgefasst werden. Ob aber die schlechte Disposition des Thieres die unmittelbare Ursache war oder die Nahrung, die aus Eingeweiden geschlachteter Kühe und Kälber besteht, bleibt einstweilen unentschieden. Auffallend war die Unmöglichkeit, das Allantoïn auch aus den Portionen 1 und 2 des Hundeharnes zu erhalten; in einem Falle blieb auf dem Filter reines Kochsalz, im andern ein Gemisch von Harnstoff + Na Cl. Dagegen erhielt ich einige Zeit nachher aus dem Harne desselben Thieres (normal ohne Ausscheidungsproducte von verfütterten Substanzen) durch die gleichen Operationen, wie beschrieben, wieder das Allantoïn in geringer Quantität.

Durch diese interessanten Funde vom Wege des Suchens nach dem Ausscheidungsproduct des α-oxynaphtolcarbonsulfonsauren Na abgelenkt, kehrten wir wieder zu demselben zurück, d. h. zu der dicken, von den Allantoïnkrystallen abfiltrirten und auf dem Wasserbade eingeengten Mutterlauge.

Aus ihr schied sich eine Portion Harnstoff ab und der Rest wurde bis zur vollkommenen Trockenheit eingedampft, mit Alcohol extrahirt und filtrirt. Das Filtrat färbte sich mit Eisenchlorid dunkelblau, und weil weder durch Extractionsmethoden noch durch Stehenlassen sich in dieser alcoholischen Lösung irgend etwas ausschied, so wurde durch Fällen mit basisch essigsaurem Pb im Ueberschuss das Bleisalz der Substanz dargestellt, dieses mit H_2S zersetzt und nach vollkommenem Ausfällen des Blei's die abfiltrirte, klare Lösung auf dem Wasserbade eingedampft. Aus der ziemlich concentrirten Lauge erhielt ich durch nochmaliges Fällen mit Bleiacetat einen krystallinischen Niederschlag in ganz geringer Menge. Er hatte röthliche Farbe ähnlich dem Natronsalz, war in kaltem Wasser unlöslich; bei Zusatz von einem Tropfen Eisenchlorid lösten sich die Krystalle unter Auftreten tiefblauer Farbe. Zweifellos war das das Bleisalz der gesuchten Substanz. In einem zweiten Versuch, dieselbe rein zu erhalten, sah ich in einem Alcohol - Aetherextract ausserordentlich leicht zerfliessliche Krystalle mit derselben Reaction. Es war rein unmöglich, sie näher zu bestimmen. Wahrscheinlich war es die reine α-Naphtolsulfonsäure, welche aus ihrem Natronsalze durch die Salz-

säure beim Ansäuern des Harnes abgeschieden wurde. Demnach scheint das saure Natronsalz der α-Naphtolsulfonsäure den Organismus unverändert zu passiren.

Zum Schlusse erfülle ich gerne die angenehme Pflicht, Herrn Prof. v. Nencki und Frau Dr. Sieber meinen ergebensten Dank auszusprechen für ihre stets bereitwilligen Räthe und die freundliche Hülfe, mit der sie mich bei der Ausführung vorliegender Arbeit unterstützten.